



Docket: 33637/US

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

First Named Inventor:	Peter Abel	
Appln. No.:	10/687,529	
Filed:	October 16, 2003	Examiner: Unknown
Title:	Immersion Sensor for Measuring the Concentration of an Analyte with the Help of an Oxidase	Group Art Unit: 1743

LETTER SUBMITTING CERTIFIED COPY  
PURSUANT TO 35 U.S.C. §119

Commissioner for Patents  
P. O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

I hereby certify that this document is being sent via First Class U. S. mail addressed to Commissioner for Patents, P. O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450, on this 3 day of March, 2004.

Francis E. Egan  
(Signature)

Dear Sir:

Pursuant to 35 U.S.C. §119, to perfect the claim for foreign priority benefits in the above-identified patent application, enclosed for filing is a certified copy of German Application No. 101 19 036.0, filed on April 18, 2001, including specification and drawings.

Respectfully submitted,

DORSEY & WHITNEY LLP  
Customer Number 25763

Date: March 3, 2004

By: David E. Bruhn  
David E. Bruhn (Reg. No. 36,762)  
Intellectual Property Department  
Suite 1500, 50 South Sixth Street  
Minneapolis, MN 55402-1498  
(612) 340-6317



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 101 19 036.0

**Anmeldetag:** 18. April 2001

**Anmelder/Inhaber:** Disetronic Licensing AG,  
Burgdorf/CH

**Bezeichnung:** Tauchsensoren zur Messung der Konzentration  
eines Analyten mit Hilfe einer Oxidase

**IPC:** C 12 Q, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 23. Oktober 2003  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'W. Schmidt'.

---

**Tauchsensor zur Messung der Konzentration eines Analyten mit Hilfe einer Oxidase**

---

Die Erfindung betrifft die Messung der Konzentration von wenigstens einem Analyten mit Hilfe einer Oxidase eines Tauchsensors, der sich in einer Flüssigkeit oder flüssigkeitshaltigen Matrix befindet. Bei der Matrix handelt es sich vorzugsweise um organisches Gewebe, besonders bevorzugt um menschliches oder tierisches Gewebe. Der Tauchsensor wird in bevorzugten Anwendungen in das Gewebe implantiert. Subkutan implantierbare Mikrosensoren auf der Basis der Glucoseoxidase als bevorzugtes Beispiel einer Oxidase stellen besonders bevorzugte Anwendungsbeispiele für die Diagnostik und intensive Therapie von Diabetes dar.

Amperometrische Enzymsensoren für die Analyse von Einzelproben auf der Basis analytspezifischer Oxidasen können als technisch ausgereift angesehen werden. Dagegen befinden sich Tauchsensoren auf der Basis einer Oxidasereaktion, die in eine analythaltige Flüssigkeit oder Matrix eingeführt oder implantiert werden, noch in der technischen Entwicklung. Wenn die Konzentration des gelösten Sauerstoffs über der Analytkonzentration liegt, kann die notwendige Sauerstoffsättigung der Oxidase nur durch selektive Diffusionsbehinderung für den Analyten erreicht werden. In hypoxischen Medien verschärft sich das Problem der Sauerstoffsättigung. Subcutan implantierbare amperometrische Mikrosensoren auf der Basis der Glucoseoxidase besitzen ein potentiell Anwendungsbereich für die Diagnostik und intensive Therapie des Diabetes mellitus [DCCT Research Group, N Engl. J. Med. 329, 977-986, 1993]. Da die Konzentration des gelösten Sauerstoffs im Gewebe nur einige Hundertstel der Glucosekonzentration beträgt, wird die enzymhaltige Schicht von einer Membran bedeckt, deren Permeabilität für Sauerstoff etwa tausendfach höher als für Glucose ist.

Dies erreicht man durch Verwendung permselektiver Membranen, unselektiver Poren bzw. Durchbrüche in einer sauerstoffdurchlässigen, für den Analyten undurchlässigen Membran (Analytfenster) oder durch Verwendung eines Sensors mit unterschiedlichen Membranen auf je einer Seite der Enzymschicht, wobei eine der Membranen für den Analyten mit geringer Permeabilität durchlässig, die andere nur für Sauerstoff permeabel ist [Gough et al., Anal. Chem. 57, 2351-2357, 1985; Sensor Heller]. Gegenwärtig erfordern implantierbare amperometrische Glucose-Sensoren eine Rekalibrierung in bestimmten Zeitabständen, weil die Empfindlichkeit sich mit der Zeit verringert. Als eine der möglichen Ursachen hierfür wird eine Zunahme des Diffusionswiderstandes für die Glucose durch permeationshemmende Auflagerungen auf die Membran oder das Analytfenster angesehen [Rigby et al., Anal. Chim. Acta 385, 23-32, 1999].

Eine Aufgabe der Erfindung besteht in der Bereitstellung eines Tauchsensors und eines Verfahrens, der bzw. das Sauerstoffsättigung der Oxidase des Tauchsensors bei relativ niedrigen Sauerstoffkonzentrationen einer Flüssigkeit oder Matrix oder einem ungünstigen Konzentrationsverhältnis zwischen dem Sauerstoff und dem Analyten gewährleistet. Vorzugsweise soll die Auswirkung etwaiger Auflagerungen auf den Diffusionswiderstand für den Analyten reduziert werden.

Die Aufgabe wird durch die Gegenstände der unabhängigen Ansprüche gelöst. Besonders vorteilhafte Ausgestaltungen werden durch die abhängigen Ansprüche beschrieben.

Die Wirkung etwaiger Auflagerungen auf den Diffusionswiderstand für den Analyten wird erfindungsgemäß dadurch reduziert, dass die Diffusion des Analyten aus der Matrix in den Enzymbereich, der vorzugsweise eine Enzymschicht ist, in mindestens einem wasserhaltigen Kanal stattfindet. Vorzugsweise besteht nur diese Möglichkeit des Analyttransports zu dem Enzym. Der Diffusionswiderstand für den Analyten wird in einer ersten Ausführungsform durch das Verhältnis von Querschnitt und Länge des vorzugsweise tangential zur Sensoroberfläche verlaufenden Diffusionsweges bestimmt. Ein vergrößelter wirksamer Querschnitt des Diffusionskanals oder der mehreren Diffusionskanäle an der Sensoroberfläche führt zu einer Abflachung äußerer

Konzentrationsgradienten und reduziert so die Wirkung äußerer Auflagerungen auf den Diffusionsfluss. Der gleiche Effekt wird in einer zweiten Ausführungsform erreicht, indem der Kanal oder die mehreren Kanäle an oder nahe der Oberfläche des Sensors in eine hydrophile, poröse und Proteine ausschließende Schicht übergeht, die an die Matrix grenzt. Der Diffusionskanal führt durch ein für Wasser unpermeables Material und ist an der Oberfläche des Sensors durch einen definierten hydrophilen porösen Stoff, z.B. regenerierte Zellulose, mit niedriger Molekülgrößenausschlussgrenze und hoher Permeabilität für niedermolekulare Stoffe gefüllt. Die Ausschlussgrenze dieses Stoffes verhindert eine Veränderung des Diffusionswiderstandes durch Eindringen von Proteinen oder anderen Kolloiden.

Die enzymhaltige, d.h. oxidasehaltige Schicht kann beispielsweise matrixseitig von einer für den Analyten undurchlässigen dünnen, für Sauerstoff permeablen Membran ohne Analytfenster bedeckt sein, während die Diffusion des Analyten aus der Matrix in die Enzymschicht in dem mindestens einen wasserhaltigen Diffusionskanal stattfindet. Im flußbegrenzenden Teil übersteigt die Länge des Kanals oder jedes Kanals im Falle mehrerer Kanäle die Dicke der Membran, vorzugsweise übersteigt die Kanallänge die Membrandicke um ein Vielfaches.

Die Sauerstoffsättigung bei unzureichendem Sauerstoffgehalt der zu untersuchenden Flüssigkeit oder Matrix oder bei einem weiten Konzentrationsverhältnis zwischen dem Analyten und dem gelösten Sauerstoff wird erfindungsgemäß dadurch erreicht, dass die enzymhaltige Schicht von innen an einen inneren Gasraum des Sensors, beispielsweise einen gashaltigen Kanal, grenzt. Die Gasphase in diesem Raum steht mit einem Sauerstoffreservoir oder der Atmosphäre in Verbindung und ermöglicht die diffusive oder konvektive Nachlieferung des verbrauchten Sauerstoffs. Der Sauerstoff diffundiert von innen in die Enzymschicht. Der den Konzentrationsabfall bewirkende Diffusionsweg des Analyten verläuft vorzugsweise durch Membranporen oder Diffusionskanäle von aussen zur Enzymschicht. Zwischen der Enzymschicht und dem gashaltigen Raum kann sich eine dünne sauerstoffdurchlässige Membran befinden. Alternativ kann die wasserhaltige Enzymschicht direkt an die Gasphase des gashaltigen Raums grenzen. Eine

günstige Möglichkeit, das erfindungsgemäße Verfahren und den erfindungsgemäßen Tauchsensoren zur Realisierung, besteht darin, die Enzymschicht an bzw. in die gequollene poröse hydrophile Wand einer Hohlfaser mit gasgefülltem Lumen zu binden. Das Eindringen von Flüssigkeit in das Lumen der Hohlfaser kann durch Anwendung leichten Überdrucks oder durch eine partielle Füllung des Lumens mit feindispersen hydrophoben Fasern oder Partikeln verhindert werden. Letztere bilden auf Grund ihrer Oberflächeneigenschaften Benetzungsbarrieren für Wasser oder wässrige Lösungen. Da der gasgefüllte Raum mit der Atmosphäre oder einem Sauerstoffreservoir kommuniziert, wird der bei der Reaktion der Oxidase mit dem Analyten verbrauchte Sauerstoff mit geringem Stoffübergangswiderstand nachgeliefert. Hierdurch können, unabhängig vom Sauerstoffgehalt der Matrix, hohe und von der Analytkonzentration abhängige Umsatzraten erreicht werden.

Die Verwendung einer gashaltigen Hohlfaser ermöglicht außer der Anwendung des amperometrischen Messprinzips weitere Möglichkeiten der Messung des Enzymumsatzes. Für eine barometrische Erfassung des Sauerstoffverbrauches wird der gashaltige Raum mit einem Drucksensor verbunden. Der hierdurch gegebene kleine Druckmeßraum läßt sich durch ein Mikroventil zeitweise von der Atmosphäre abschließen. Danach erzeugt der Sauerstoffverbrauch eine Abnahme des Gasdruckes, dessen Geschwindigkeit von der Konzentration des Analyten abhängt. Bei geschlossenem Ventil sinkt der Sauerstoffpartialdruck im Druckmeßraum auf einen Wert von nahe Null, danach ist der Analytverbrauch stark verlangsamt. Durch Öffnen des Mikroventils vor dem nächsten Meßzyklus wird der Druckmeßraum wieder mit Sauerstoff angereichert. Eine kontinuierliche barometrische Detektion läßt sich durch Einführung eines auf die Reaktionsgeschwindigkeit abgestimmten Gasdiffusionswiderstandes zwischen dem Druckmeßraum und der Atmosphäre erreichen. Wird das Lumen des Druckmeßraumes durch eine feine Pore oder Kapillare mit der Atmosphäre verbunden, ist die Druckdifferenz zur Atmosphäre dem Analytumsatz im steady state proportional. Ist das Lumen des Druckmeßraumes ausreichend klein, reagiert die Druckabnahme mit geringer Übergangszeit auf Änderungen des Analytumsatzes.

Es bestehen prinzipiell weitere Möglichkeiten zur Messung des Umsatzes der Oxidase in einem eingetauchten oder implantierten Sensor, beispielsweise durch Erfassung der Sauerstoffkonzentration in einem externen Gasanalyseraum. Zur Gewährleistung einer kontinuierlichen Gasströmung durch den gashaltigen Kanal im Tauchsensord und den nachgeschalteten äußeren Gasanalyseraum können Mikrodialysesonden mit in der Hohlfasermembran immobilisierter Oxidase eingesetzt werden. Wegen des geringen Konvektionswiderstandes langsam strömender Gase können sehr enge Kapillaren verwendet und der Gasanalyseraum in einer gewissen Entfernung vom eigentlichen Tauchsensord oder implantierbaren Sensor angebracht werden. Zur Analyse des Gasumsatzes, z.B. der Abnahme des Sauerstoffgehaltes oder der Bildung flüchtiger Reaktionsprodukte wie des Wasserstoffperoxids, können elektrochemische oder optische Meßvorrichtungen eingesetzt werden.

Nachfolgend wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen erläutert. An den Ausführungsbeispielen offenbar werdende Merkmale bilden je einzeln und in jeder Merkmalskombination einschließlich jeder aus mehreren Ausführungsbeispielen gebildeten Merkmalskombination, d.h. einer Kombination von einem oder mehreren Merkmalen eines Ausführungsbeispiels mit einem oder mehreren Merkmalen eines anderen Ausführungsbeispiels, die Gegenstände der Ansprüche in bevorzugte Richtungen weiter.

#### Beispiel 1:

Durch 20 cm lange Segmente einer Hohlaser aus regenerierter Zellulose (Kunstfaserwerk Pirna, Deutschland) mit einem Innendurchmesser von 180  $\mu\text{m}$  und einem Außendurchmesser von etwa 210  $\mu\text{m}$  wird eine Lösung aus Glucoseoxidase und Katalase (je 0.3 %), Serumalbumin (2 %) und Natriumalginat (2 %) in Ammoniumhydrogencarbonatlösung (pH 7,8) hindurchgesaugt. Die auf der Innenseite des Lumens haftende Enzymschicht wird anschließend in einer mit Wasserdampf und Glutaraldehyd gesättigten Atmosphäre vernetzt. Die Hohlaser wird in glycinhaltigem und später in glycerolhaltigem Wasser gewaschen und in der Kälte an der Luft

getrocknet. Anschließend werden die Hohlfasern in 1,5 cm lange Segmente zerteilt. Für die Herstellung eines Sensors wird ein derartiges Segment in spezielle 1.8 cm lange Edelstahlkanülen mit passendem Durchmesser, beispielsweise einem Innendurchmesser von ca. 0.25 mm und einem Außendurchmesser von ca. 0.35 mm, eingeführt. Die Kanülen besitzen im apikalen, etwa 1,3 cm langen Abschnitt Poren, deren Größe und Abstand so berechnet ist, daß ein definierter Diffusionswiderstand für Glucose im Bereich von 50 bis 100 s  $\mu\text{l}^{-1}$  erzielt wird. Wird die Enzymreaktion durch diesen Widerstand begrenzt, ergibt sich bei einer Konzentration von 5 mmol  $\text{l}^{-1}$  ein Analytverbrauch von 3 bis 6 nmol/min, der bei amperometrischer Detektion einen Reaktionsstrom im Mikroampere-Bereich erzeugen würde. Der so eingestellte Glucose-Verbrauch, der etwa dem Glucose-Entzug bei der Mikrodialyse mit einer Flußrate von 5  $\mu\text{l}$  pro Stunde entspricht, verursacht noch keine Herabsetzung der Glucosekonzentration in der Umgebung der Hohlfaser. An der Kanülenspitze und an der Basis bis zu den Schlitten wird die Hohlfaser mit selbsthärtendem Polyacrylatklebstoff dichtend befestigt und das Lumen an der Spitze verschlossen; es bleibt an der Basis offen. Um das Eindringen von Flüssigkeit in das Lumen der Hohlfaser zu verhindern, wird das Hohlfaserlumen mit feinen hydrophoben Fasern gefüllt. Die Kanüle wird mit der offenen Basis an den Meßraum eines Mikrodrucksensors (Meßbereich 200 mbar) angeschlossen. Der Meßraum des Drucksensors besitzt ein Volumen von ca. 1  $\mu\text{l}$ . Das gasgefüllte Lumen der Hohlfaser hat ein Volumen von ca. 0.5  $\mu\text{l}$ . Der Messraum des Drucksensors und die Atmosphäre sind durch eine feine Kanüle verbunden, die einen Gasdiffusionswiderstand von 100 s  $\mu\text{l}^{-1}$  erzeugt. Wird der Sensor in eine glucosehaltige Lösung mit Glucosekonzentrationen zwischen 1 und 30 mM eingeführt, bewirkt der äussere Glucose-Diffusionswiderstand eine Limitation des konzentrationsabhängigen Glucoseverbrauchs auf 0.6 bis 36 nmol  $\text{min}^{-1}$  bzw. auf 15 bis 600 nl  $\text{min}^{-1}$ . Der Gasdiffusionswiderstand bewirkt einen Druckabfall gegenüber der Atmosphäre. Bei einer Konzentration von 5 mM bzw. einem Sauerstoffverbrauch von etwa 100 nl  $\text{min}^{-1}$  beträgt diese Druckabnahme ca. 20 mbar und ist damit genau erfaßbar. Da der Sauerstoffgehalt des Meßraumes sehr gering ist, beispielsweise ca. 10 nmol, werden Veränderungen in der Umsatzrate mit einer Verzögerung unter 3 min registriert. Die Empfindlichkeit des Sensors kann dadurch gesteigert werden, daß der Drucksensor und der Meßraum über



den Gasdiffusionswiderstand mit einem Sauerstoffreservoir von vorzugsweise etwa 10 bis 20 ml verbunden wird, welches mit reinem Sauerstoff gefüllt ist. Ein leichter Überdruck in diesem Sauerstoffreservoir von vorzugsweise ca. 300 mbar gegenüber dem Atmosphärendruck verhindert das Eindringen von Wasser in das Hohlfaserlumen, wodurch die Einführung von Fasern oder Partikeln unnötig wird.

### Beispiel 2:

Ein Tauchsensorm nach dem zweiten Ausführungsbeispiel ist in der Figur dargestellt.

Der Grundkörper 7 des Sensors ist stabförmig und besteht aus isolierendem Kunststoff mit parallel liegenden Edelmetallelektroden 5, die in zwei Vertiefungen enden, welche auf gegenüberliegenden Seiten des Körpers 7 liegen und Enzymschichten 1 enthalten. Ein Raum 6 zwischen den Elektroden 5 und den Enzymschichten 1 kann gashaltig und gasleitend gestaltet werden, indem er mit einem porösen, hydrophoben Material, z.B. Polypropylenschaum, gefüllt ist, oder er ist mit dem Kunststoffmaterial des Grundkörpers 7 ausgefüllt. Die Enzymschichten 1 sind je mit einer dünnen für den Analyten und Salze undurchlässigen Membran 2 bedeckt. Für den Fall, dass der Raum 6 zwischen den Enzymschichten 1 mit Kunststoff ausgefüllt ist, ist die oberflächliche Membran 2 sauerstoffdurchlässig. Von der Seite führen in definiertem Abstand enge wasserhaltige Diffusionskanäle 3 von der Enzymschicht 1 zur Sensoroberfläche. Sie enden in einer außerhalb des Membranbereiches 1, 2 liegenden porösen Schicht 4 aus regenerierter Zellulose, welche eine Molekülgrößenausschlussgrenze für Proteine im Bereich von 5 bis 10 kDa besitzt.

Das Verhältnis (Q) der Diffusionswiderstände für den Analyten ( $R_a$ ) und den Sauerstoff ( $R_o$ ) ergibt sich bei membrankontrollierter Sauerstoffdiffusion aus einem Geometriefaktor (G) und dem Verhältnis zwischen den Diffusionskoeffizienten des Sauerstoffs in der Membran ( $D_o$ ) und dem Diffusionskoeffizienten des Analyten in den Diffusionskanälen ( $D_a$ ).  $D_a$  unterscheidet sich wenig von dem Diffusionskoeffizienten des Analyten in Wasser.

$$Q = R_a/R_o = G \times D_o/D_a.$$

Der Geometriefaktor G berechnet sich aus der Fläche ( $A_m$ ) und der Stärke ( $d_m$ ) der sauerstoffdurchlässigen Membran 2 sowie der Summe der Länge ( $d_k$ ) und der Summe der Querschnittsflächen ( $A_k$ ) der Diffusionskanäle 3 für den Analyten.

$$G = \frac{A_m \cdot d_k}{A_k \cdot d_m}.$$

Es ergeben sich mehrere Freiheitsgrade, insbesondere Anzahl der Kanäle 3, Längen und Querschnitte der Kanäle 3, Dicke der sauerstoffdurchlässigen Membran 2 und Diffusionskoeffizient des Membranmaterials, um das Verhältnis Q an die Meßaufgabe anzupassen. Es ist zu berücksichtigen, dass bei einer Kanallänge von mehr als 0.3 mm der Zeitbedarf für die Einstellung des steady states der Analytdiffusion einige Minuten erreicht. Da die Kanalquerschnittsfläche klein gegenüber der Fläche der äußeren Schicht aus regenerierter Zellulose ist, wird der Konzentrationsgradient des Analyten ausserhalb der Sensoroberfläche stark abgeflacht und der gesamte Diffusionswiderstand für den Analyten unempfindlich gegenüber Materialauflagerung an der Sensoroberfläche.

---

**Tauchsensor zur Messung der Konzentration eines Analyten mit Hilfe einer Oxidase**

---

**Patentansprüche**

1. Verfahren zur Messung der Konzentration wenigstens eines Analyten mit Hilfe einer in oder an einem Tauchsensor immobilisierten analytspezifischen Oxidase, wobei der Analyt durch mindestens einen diffusionslimitierenden, wasserhaltigen Kanal (3) von einer Oberfläche des Sensors in den Enzymbereich (1) diffundiert.
2. Verfahren zur Messung der Konzentration wenigstens eines Analyten mit Hilfe einer in oder an einem Tauchsensor immobilisierten analytspezifischen Oxidase, wobei der für die Oxidation des Analyten benötigte Sauerstoff aus einem gasgefüllten Raum (6) von innen direkt oder über eine sauerstoffdurchlässige Membran von innen in den Enzymbereich (1) diffundiert.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2.
4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, bei dem Sauerstoff aus der Atmosphäre oder einem Sauerstoffreservoir in den gasgefüllten Raum (6) geführt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 4, bei welchem der mit der Enzymreaktion verbundene Sauerstoffverbrauch durch Druckmessung in der Gasphase detektiert wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 5, bei welchem Wasserstoffperoxid, ein flüchtiges Reaktionsprodukt des Wasserstoffperoxids oder Sauerstoff in einem mit dem gasgefüllten Raum (6) konvektiv oder diffusiv verbundenem externen Gasanalyseraum detektiert wird.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem die Enzymreaktion amperometrisch in dem Enzymbereich (1) gemessen wird.

8. Tauchsensoren zur Messung der Konzentration wenigstens eines Analyten mit Hilfe einer Oxidase, wobei in dem Tauchsensoren mindestens ein Raum (6) für gasförmigen Sauerstoff gebildet ist, welcher von innen direkt oder über ein sauerstoffdurchlässiges Material an den vorzugsweise wasserhaltigen Enzymbereich (1) grenzt.

9. Tauchsensoren nach dem vorhergehenden Anspruch, bei dem der Raum (6) für den Sauerstoff mit der Atmosphäre oder einem sauerstoffhaltigen Gasreservoir verbunden ist.

10. Tauchsensoren nach dem vorhergehenden Anspruch, wobei das Gasreservoir und der Raum für den Sauerstoff einen Überdruck gegenüber dem Atmosphärendruck aufweisen.

11. Tauchsensoren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Raum für den Sauerstoff hydrophobe Feststoffoberflächen, die eine Benetzungsbarriere für wässrige Lösungen und Wasser erzeugen, enthält.

12. Tauchsensoren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Raum für den Sauerstoff durch eine poröse Folie aus Polypropylen ausgefüllt ist.

13. Tauchsensoren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Enzymbereich (1) sich an oder in der Wand einer Hohlaser befindet.

14. Tauchsensoren zur Messung der Konzentration wenigstens eines Analyten mit Hilfe einer Oxidase, wobei der Tauchsensoren die Oxidase in einem Enzymbereich (1) aufweist,

der von einem für den Analyten undurchlässigen Material bedeckt ist und über mindestens einen wasserhaltigen, für den Analyten durchlässigen, aber auf Grund seiner Geometrie diffusionslimitierenden Kanal (3) mit einer Sensoroberfläche verbunden ist.

15. Tauchsensor nach dem vorhergehenden Anspruch und wenigstens einem der Ansprüche 8 bis 13.

16. Tauchsensor nach dem vorhergehenden Anspruch, wobei der mindestens eine diffusionslimitierende Kanal (3) durch unpermeables Material des Tauchensors führt.

17. Tauchsensor nach einem der drei vorhergehenden Ansprüche, wobei der mindestens eine diffusionslimitierende Kanal (3) an oder nahe bei der Oberfläche des Sensors mit einem porösen, für Proteine undurchlässigen Stoff gefüllt ist.

18. Tauchsensor nach einem der vier vorhergehenden Ansprüche, wobei der Kanal (3) an der Sensoroberfläche in eine für Proteine undurchlässige hydrophile Schicht übergeht und/oder der Kanalquerschnitt an der Oberfläche des Sensors größer als im diffusionslimitierenden Teil ist.

---

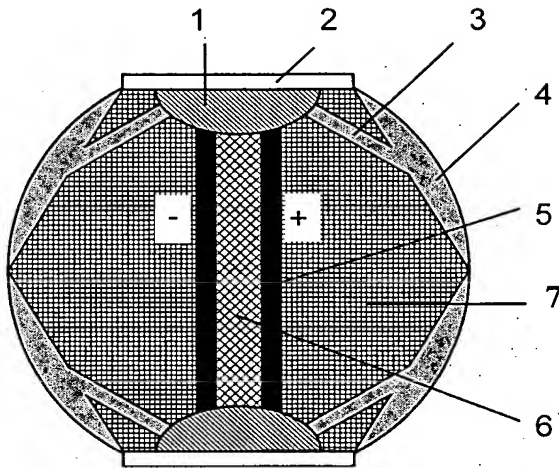
**Tauchsensor zur Messung der Konzentration eines Analyten mit Hilfe einer Oxidase**

---

**Zusammenfassung**

Die Erfindung betrifft die Messung der Konzentration von Analyten mit Hilfe einer Oxidase in einem Tauchsensor, der sich in einer Flüssigkeit oder flüssigkeitshaltigen Matrix befindet. Sauerstoff diffundiert in die Enzymschicht von innen aus einem gasgefüllten Raum, der mit der Atmosphäre bzw. einem Sauerstoffreservoir in Verbindung steht. Dies ermöglicht Sauerstoffsättigung der Oxidase in einem sauerstoffarmen oder sauerstofffreien Medium bzw. bei hoher Analytkonzentration. Die Diffusion des Analyten in die Enzymschicht erfolgt in einem diffusionslimitierenden wasserhaltigen Kanal oder mehreren solcher Kanäle, wobei der Kanal/die Kanäle an der Sensoroberfläche mit einer für Proteine undurchlässigen hydrophilen Matrix gefüllt ist/sind. Durch Vergrößerung des Kanalquerschnittes an der Sensoroberfläche und/oder durch Verbindung des Kanals/der Kanäle mit einer für Proteine undurchlässigen porösen hydrophilen Schicht an der Sensoroberfläche wird die Wirkung äußerer Ablagerungen auf den Diffusionswiderstand für den Analyten reduziert.

**Figur 1**



1: Enzymschicht, 2: für den Analyten undurchlässige, gegebenenfalls sauerstoffdurchlässige Membran, 3: Diffusionskanal für den Analyten, 4: oberflächennaher Teil des Diffusionskanals für den Analyten, 5: Elektroden, 6: Teil des Sensors, in dem gegebenenfalls der gashaltige Kanal liegt, 7: Grundkörper.